

下顎骨骨空洞の治癒過程に関する病理組織学的研究 ：とくにハイドロキシアパタイト顆粒填入後の組織 修復について

著者名(日)	牧 富弥代
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	18
号	1
ページ	65-85
発行年	1999-06-30
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00008384/

〔原 著〕

下顎骨骨空洞の治癒過程に関する病理組織学的研究
—とくにハイドロキシアパタイト顆粒填入後の組織修復について—

牧 富弥代

北海道医療大学歯学部口腔外科学第二講座

(主任：有末 眞教授)

Histopathological study of healing in the mandibular bony cavity
—Especially tissue repair after filling with hydroxyapatite to bony cavity—

Fumiyo MAKI

Second Department of Oral Surgery, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

(Chief: Prof. Makoto ARISUE)

Abstract

The purpose of this study is to evaluate the healing process of the bony cavity and the role of the periosteum. Adult male rabbits were divided into 4 groups :

Group 1. Periosteum preserved without HAP granules.

Group 2. Periosteum resected without HAP granules.

Group 3. Periosteum preserved with HAP granules.

Group 4. Periosteum resected with HAP granules.

Rabbits were killed and observed histomorphometrically at 7, 14, 21, 28, or 56 days after the operation.

Results

Group 1 : The contour of the mandibular bone was almost recovered, but hollow surfaces were observed in some specimens.

Group 2 : Hollow surfaces of bone were observed.

Group 3 : The contour of the mandible was recovered by new bone and HAP.

第52回日本口腔科学会総会

受付：平成11年3月31日

Group 4 : Bone formation did not occur in some parts.

In conclusion, HAP plays an important role in the recovery of the bone contour and the periosteum may be involved in regulation of the direction of osteogenesis.

key words : Bony cavity, Hydroxyapatite, Healing process, periosteum.

I. 緒 言

顎骨内には嚢胞や腫瘍など様々な疾患が生じるが、病巣の摘出後に大きな空洞状の骨欠損が残るものでは、その修復過程で欠損部を被覆する軟組織が空洞内に陥入するため、欠損部が陥凹し治癒する傾向があり、そのため顎骨の変形や骨性支持力の喪失により、顔貌の形態や口腔機能に障害を認めることも少なくない。顎骨の欠損に対する治療法は、骨あるいは人工生体材料を用いたの補填に大別されている。骨移植に関しては、とくに新鮮自家骨移植が広く行われ良好な成績を挙げているが¹⁻⁵⁾、この方法には、骨採取のための二次的手術侵襲、採取する骨の量やその形態が制限されるなどの欠点がある。一方、人工生体材料として、ハイドロキシアパタイト（以下HAP）や生体ガラス、リン酸三カルシウムが開発され、これらは工業的に供給が無限で必要に応じた形態付与が可能であり、組織親和性と骨伝導能を有することから、骨補填材料として近年広く用いられている⁶⁻¹¹⁾。当講座においても、人工骨補填材である生体ガラス顆粒を用いた骨膜下トンネル法による顎堤形成術の研究^{12,13)}や焼成温度の違うHAP顆粒の骨形成能に関する研究¹⁴⁾が行われており、生体ガラスとHAPの良好な組織親和性と骨伝導能を明らかにしてきた。しかし、生体ガラスは生体の骨成分とは全く異なり、骨と比較して強度が弱いこと、生体ガラスからシリカイオンが溶出してゲル状の分子を作り、腎臓の糸球体に沈着して腎炎を誘発するなどの問題点も指摘されている¹⁵⁾。一方、HAP顆粒は骨構成ミネラルから

なっており、また形状が顆粒のため骨欠損部への填入が容易なため、比較的大きな骨空洞への骨補填材料として臨床で広く用いられている。これまで、骨欠損部へのHAP顆粒填入後の治癒過程に関する研究は数多くみられるが¹⁶⁻²³⁾、いずれも補填部が比較的短期間に治癒する小さな骨空洞モデルでなされており、機能や形態の保持のため骨補填材を必要とする比較的大きな骨空洞を作製して行ったものはない。そのため骨空洞内面と骨膜側からの修復とを明瞭に区別することが困難であり、HAP顆粒填入後の治癒過程や外骨膜の役割などについて詳細に観察を行っているものはみられない。そこで今回、顎骨の欠損部の形態保持のため大きな骨空洞内にHAP顆粒を填入した場合の治癒過程とその際の外骨膜の役割を明らかにする目的で、ウサギの下顎骨骨体部に12×9×3.5mmの骨空洞を形成し、空洞内にHAP顆粒を填入し、病理組織学的ならびに組織計量学的に検討した。

II. 実験材料・方法

1. 実験動物と飼育方法

実験動物には、生後30週齢の成熟した雄性、日本白色種ウサギ60匹（平均体重3.5kg）を用いた。実験期間中、専用の金属製飼育箱に1匹ずつ入れ、固形飼料（RC-4、オリエンタル酵母工業株式会社、東京）と水道水を十分に与えて飼育した。

2. 実験材料

HAP顆粒は旭光学社製（東京）のアパセラム[®]タイプGを使用した。本顆粒は焼成温度1200°C、

実験 1

HAP非填入・骨膜保存群

HAP非填入・骨膜切除群

実験 2

HAP填入・骨膜保存群

HAP填入・骨膜切除群

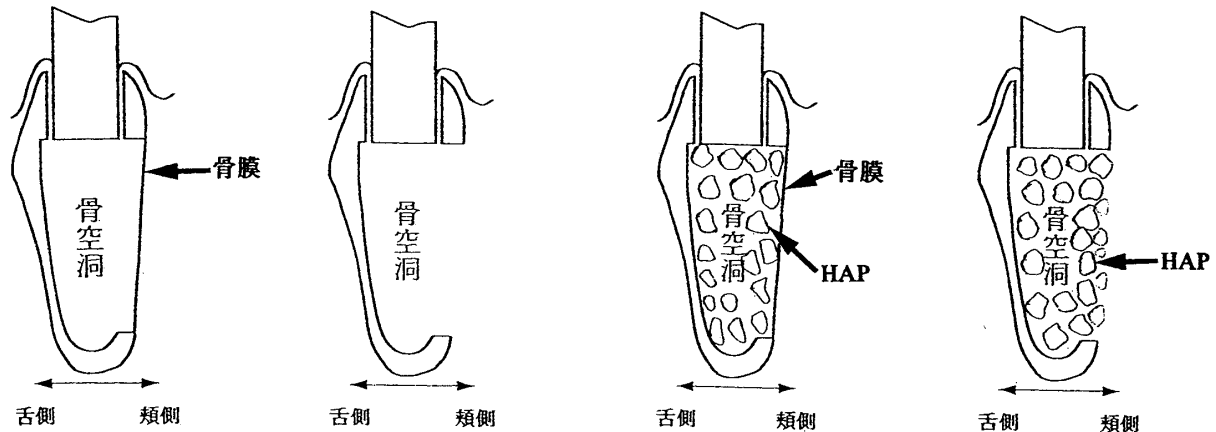


図 1 設定した実験群の模式図

顆粒直径0.6~1.0mm, 気孔径100~300 μ m, 気孔率20%である。

3. 実験方法

1) 実験について (図 1)

- (1) 実験 1 として骨空洞内にHAP顆粒を填入せずに骨膜保存群と骨膜切除群を設定した。
- (2) 実験 2 として骨空洞内にHAP顆粒を填入した骨膜保存群と骨膜切除群を設定した。

2) 骨空洞形成と骨膜切除方法

滅菌生理食塩水に希釈したPentobarbital sodium (NENBUTAL® INJECTION, ダイナボット社製, 大阪)を26mg/kg耳静脈内に投与し, ウサギを鎮静させた後, 左右顎下部の剃毛を行い, 同部の皮膚を10%ポビドンヨード (イソジン液®, 明治製菓社製, 東京)を用いて消毒し, 8万分の1エピネフリン含有2%塩酸リドカイン (キシロカイン® 注射液『2%』, 藤沢薬品工業製, 大阪)を用い右下顎骨部の局所麻酔を行った。次に, 村上²⁴⁾の実験方法に準じて, オトガイ下部正中から右下顎角部にかけて皮膚

を切開し, 右下顎下縁部の外骨膜を露出させた。次いで骨膜保存群では同部の外骨膜を切開した後, 外骨膜を周囲軟組織とともに骨から剝離した。また, 骨膜切除群は右下顎下縁部の外骨膜を露出後, 外骨膜と周囲軟組織を鈍的に剝離し, 骨膜を縦11mm×横14mmの大きさで切除し右下顎骨骨体部を露出し, 骨空洞の形成は滅菌生理食塩水注水下で, 歯科用エンジンバー (JETカーバイドバー, 株式会社松風, 京都)を用い, 第二小臼歯および第一大臼歯相当の下顎骨骨体部頬側皮質骨から舌側皮質骨内側面に至る近遠心径12mm×上下径9mm×深さ3.5mmの大きさで行った (図 2)。

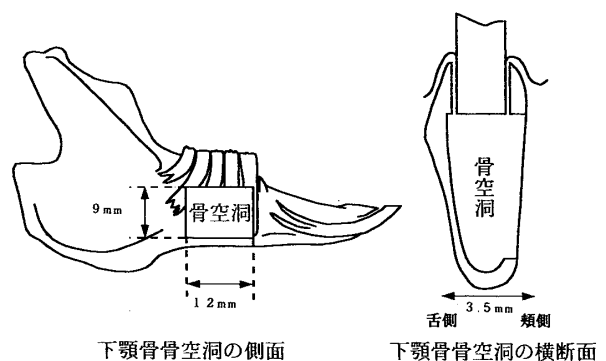


図 2 下顎骨骨空洞の模式図

実験1では、骨空洞内と周囲軟組織を滅菌生理食塩水で十分に洗浄した後、皮下組織ならびに皮膚を旧位に復し、3-0ナイロン糸を用いて縫合し閉鎖創としたが、この際骨膜保存群では剝離した骨膜も旧位に復し縫合した。また、実験2では骨空洞形成後、歯科用鋭匙を用いてHAP顆粒に過剰な圧力を加えないように頬側の皮質骨表面と同じ高さまで空洞内に緊密に填入し、実験1に準じ縫合閉鎖創とした。なお、術後の感染予防のため、滅菌生理食塩水で希釈したAmpicillin sodium(注射用PENTREX[®]、萬有製薬、東京)を36mg/kg耳静脈内に手術直前に1回投与した。

(3) 摘出日程と蛍光物投与方法

実験1、2ともに骨空洞形成後7日、14日、21日、28日、56日目に各々3匹のウサギを屠殺し、右側下顎骨を周囲軟組織を付着したまま摘出した。なお、いずれのウサギにも屠殺2日前、カルセイン(ドータイト・カルセイン[®]、和光純薬、東京)を8mg/kg背部皮下に注射した。

(4) 標本作製方法

摘出した下顎骨は、直ちに10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、骨空洞中央部で頬舌方向に2分割し、近心側を脱灰標本、遠心側を非脱灰標本とした。なお、脱灰標本は、固定した組織を10%蟻酸で3週間脱灰、十分に水洗した後パラフィンに包埋した。次いで、厚さ5 μ mの連続切片を作製し、通法に従いヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を行った。一方、非脱灰標本の作製は、固定した組織を十分水洗し、Bone stain powder(Villanueva bone stain powder[®]、株式会社マルトー、東京)0.5gに対し、70%メタノール100mlで調合したものをVillanueva bone stain液とし、その液中に4日間浸漬・染色後、エタノール上昇系列にて脱水し、アセトンにて置換した。その後、樹脂真空含浸装置を用いてエポキシ樹脂(エポン812[®]、TAAB社製、U.K.)に包埋、ゼーゲミクローム

SP1600(Leica社製、Germany)にて厚さ80 μ mの前頭断半連続切片を作製した。

(5) ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色像とラベリング像の観察方法

HE染色像は万能顕微鏡Axioplan(Carl Zeiss社製、Germany)を用いて観察した。ラベリング像は、前述の顕微鏡と専用の落射蛍光装置を用いて観察した。

(6) 蛍光像の組織計量方法

計量用非脱灰標本は、骨空洞の遠心壁からの新生骨形成の影響を避けるため、骨空洞中央部から1ウサギあたり3枚ずつ選択した。組織計量部位は、骨空洞中央部の上下幅5mmの区域とし、骨空洞内のカルセインでラベルされた新生骨の面積を測定し、3枚の平均値を比較した。なお、歯槽側ならびに下縁側の皮質骨切断面から各々2mmまでの区域は分析から除外した。蛍光像の画像分析には、パーソナルコンピューターを利用した画像解析システムを用いた。パーソナルコンピューターは、Macintosh(Apple Computer社製、U.S.A.)を用い、コンピューターソフトは、Adobe Photoshop 2.01(J)(アドビシステム社製、U.A.S.)とImage 1.47(NIH製、U.S.A.)を使用し、画像の取り込みには、Nicon Cool Scan(日本光学工業社製、東京)を用いた。

III. 結 果

1. 実験1：HAP顆粒非填入群

1) 組織学的観察

(1) 骨膜保存群

① 7日目

骨空洞中央部は、フィブリンと赤血球を主体とした凝血塊で満たされ、その周囲に肉芽組織と舌側皮質骨から連続して梁状の新生骨形成を認め、また舌側皮質骨空洞側では骨細胞が数層消失していた。新生骨梁間には多数の血管が形成され、骨梁先端部には立方形の骨芽細胞が多

数認められた。骨空洞を被覆する外骨膜の著明な肥厚を認め、頬側皮質骨欠損中央部では周囲組織との境界は不明瞭であった。また、舌側骨膜は全体的に肥厚し、梁状の新生骨が既存骨表層に形成されていた(写真1a, 1b)。

②14日目

骨空洞内の新生骨形成が進行し、空洞内の凝血塊はほとんど吸収されていた。新生骨組織の表面に立方形の骨芽細胞の規則正しい配列を認めた。骨空洞を被覆する外骨膜は肥厚し、周囲組織との境界は不明瞭であった。舌側既存骨外側に形成された新生骨は既存骨表層から不規則に癒合して索状から放射状構造を呈していた。新生骨に存在する骨細胞の分布は既存骨に比べて不規則で高密度であった。また、一部の標本では、骨空洞内中央部に青灰色に染まる肥大軟骨細胞を含む硝子軟骨を認め、石灰化軟骨基質も観察された(写真2)。

③21日目

空洞内全体に大小多数の血管を伴う骨形成が認められた(写真3a)。骨梁表面には多数の骨芽細胞を認め、骨空洞を被覆する外骨膜は一部肥厚し、肥厚部では、著しい骨形成が認められた。舌側の外骨膜も一部肥厚し、癒合した骨梁間には比較的大きな血管を認めた(写真3b)。

④28日目

頬側骨膜下の骨梁は連続性と厚みを増し、新生骨組織中央部で骨改造が進行して骨髓様組織が認められた。また、頬側皮質骨欠損部付近の新生骨は緻密化が進行していた。頬側骨皮質骨欠損部中央では骨膜の肥厚を認めたが、頬側骨断端付近の骨膜の肥厚は軽減していた。舌側の外骨膜の肥厚はほぼ消失し、癒合した厚い骨梁間には大小の血管が認められた。

⑤56日目

頬側皮質骨欠損部は、骨空洞形成前の形態にほぼ修復されていたものの一部に骨空洞内への陥凹を認めるものも存在した。骨空洞中央部で

は骨髓組織で広範に置換され連続性のない骨梁小塊が散在しており、また、頬側骨欠損側に形成された新生骨はさらに緻密化が進行して層板状構造を呈していた(写真4a)。頬側皮質骨欠損部中央では骨膜の肥厚が認められた。舌側既存骨外側の新生骨は緻密化して骨細胞の分布は規則的になり、既存皮質骨に類似した構造を呈していた(写真4b)。

(2) 骨膜切除群

①7日目

骨空洞は、ほぼ凝血塊で満たされ、また、頬側に存在する腺組織は空洞内へ陥入し、腺組織近傍には、毛細血管に富む幼若な肉芽組織の増生が認められた。舌側既存骨から連続した梁状の新生骨形成が一部みられ、新生骨梁先端部には多数の立方形の骨芽細胞の配列が認められた。

②14日目

舌側既存骨から大小多数の血管を伴う骨形成がみられ、凝血塊はほぼ吸収され、肉芽組織に置換されていた。骨空洞外部の結合組織から空洞方向へ線維芽細胞、血管に富む肉芽組織の増生が認められた。

③21日目

舌側既存骨から骨空洞中央部まで骨形成が進行し、腺組織の空洞内への陥入がみられた(写真5)。また、骨梁表面には多数の骨芽細胞を認め、骨膜欠損側は肉芽組織によって満たされていた。凝血塊はほぼ消失し、その周囲は、肉芽組織、新生骨によって置換されていた。

④28日目

骨空洞内の骨梁は厚みと連続性を増し、骨膜欠損側には、血管に富む肉芽組織により満たされ、肉芽組織と骨空洞外部の結合組織間に頬側既存骨膜から連続した比較的薄い骨膜様線維性組織の介在を認めた。空洞内の新生骨表層に多核の破骨細胞がみられ、骨改造が認められた。

⑤56日目

骨空洞中央部では骨改造が進行して骨髓様組織を認め、頬側皮質骨欠損部では緻密骨による連続性がみられたものの中央部において空洞内への陥凹が認められた(写真6)。頬側既存骨膜から連続した放射状にひろがる骨膜の形成を認めた。なお、舌側外骨膜の骨新生については、実験1の骨膜保存群と同様であった。

2) 蛍光像の観察と組織計量

(1) 骨膜保存群

①7日目

舌側皮質骨および頬側皮質骨下縁側の骨切除部に近接し、カルセインでラベルされた梁状の新生骨がわずかにみられ、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.21mm^2 であった。

②14日目

骨空洞は中央部が陥凹した皿状を呈し、骨空洞内で盛んな新生骨の形成がみられた。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 2.16mm^2 であった。

③21日目

ラベリング像は14日目とほぼ同様で、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 1.44mm^2 であった。

④28日目

骨空洞は形成前の状態にほぼ修復され、骨空洞の頬側皮質骨欠損部にカルセインでラベルされた新生骨の形成を認めた。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.40mm^2 であった。

⑤56日目

骨空洞の頬側皮質骨欠損部に形成された新生骨の最外層のみにラベリング像を認め(写真7)、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.03mm^2 であった。

以上より、カルセインでラベルされた空洞内の新生骨の面積は、7日目より増加し、14日目で最大となった後、経時的に減少する傾向を示した(図3)。

(2) 骨膜切除群

①7日目

舌側皮質骨および頬側皮質骨下縁側の骨切除部に近接し、カルセインでラベルされた梁状の新生骨がわずかにみられ、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.20mm^2 であった。

②14日目

骨空洞は中央部が陥凹した皿状を呈し、骨空洞内で盛んな新生骨の形成がみられた。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 1.42mm^2 であった。

③21日目

ラベリング像は14日目とほぼ同様で、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 1.59mm^2 であった。

④28日目

骨空洞の中央部は陥凹した皿状を呈し、骨空洞内の舌側皮質骨側から空洞中央部にかけてカルセインでラベルされた新生骨を認めた。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.58mm^2 であった。

⑤56日目

骨空洞の中央部が陥凹した皿状の形態を呈し、28日と比較しても大きな変化はみられなかった(写真8)。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.02mm^2 であった。

以上より、カルセインでラベルされた骨空洞内の新生骨の面積は、7日目より増加し、21日目最大となった後、経時的に減少する傾向を示した(図3)。

2. 実験2：HAP顆粒填入群

1) 組織学的観察

(1) 骨膜保存群

①7日目

顆粒間と気孔内は全体的に凝血塊で満たされていたが、舌側皮質骨に隣接したHAP顆粒間に新生骨形成を一部認めた。骨空洞を被覆する骨膜は全体的に肥厚しており、骨芽細胞の配列は

みられなかった。骨膜は皮質骨欠損中央部で周囲線維性結合組織との境界が不明瞭となっていた。

②14日目

凝血塊は吸収され、舌側皮質骨空洞側および頬側皮質骨断端部の顆粒間に新生骨形成を認めた。肥厚した骨膜には赤血球を充満して拡張した血管が多数みられ、皮質骨断端部近傍の骨膜には骨芽細胞の配列と新生骨形成が認められたが、皮質骨欠損中央部に相当する骨膜には、骨芽細胞の配列は認められなかった。頬側皮質骨欠損部の顆粒間は、線維性結合組織で満たされていた。

③21日目

新生骨は舌側皮質骨から頬側骨膜下までの顆粒間および顆粒気孔内に広範に認められた（写真9a）。剝離復位した骨膜は二方向に分かれ、一方は顆粒表面を覆い、一方は空洞内へ彎曲して走行していた。皮質骨断端部から空洞内へ向かう骨膜に沿って骨形成を認めた（写真9b）。また、皮質骨欠損中央部に相当する骨膜には骨芽細胞の配列はみられなかった。

④28日目

皮質骨断端部から骨膜に沿った新生骨の増生が認められ、緻密化した新生骨は顆粒間を連結するように介在していた。骨膜の肥厚はほとんど認められず、周囲の線維性結合組織との境界も比較的明瞭であった。皮質骨欠損中央部の骨膜に骨芽細胞の配列はみられなかった。

⑤56日目

頬側皮質骨欠損部はHAP顆粒を介在した骨性治癒により骨空洞形成前の形態にほぼ修復されていた（写真10）。舌側皮質骨空洞側の顆粒間では骨髓様組織が形成され、空洞中央部での顆粒間および気孔内の新生骨梁は太さを増していたが、一部に線維性結合組織で被包された顆粒が認められた。骨膜側の顆粒間に形成された骨組織にオステオン様構造が多数認められ、緻密

化が進行していた。HAP顆粒の気孔内壁面では、添加性に骨が層状に形成され、立方形の骨芽細胞の規則正しい配列と破骨細胞がみられた。皮質骨欠損側の骨膜とHAP顆粒の表面が密に接触している部位では骨形成は認められなかった。なお、舌側外骨膜の骨新生については、実験1の骨膜保存群と同様であった。

(2) 骨膜切除群

①7日目

HAP顆粒間と気孔内はほぼ凝血塊で満たされ、舌側皮質骨に隣接した顆粒間は肉芽組織で満たされていた。頬側骨断端付近には赤血球とフィブリンを含む幼若な肉芽組織を認め、皮質骨欠損中央部の顆粒間および気孔内は赤血球とフィブリンで満たされていた。

②14日目

舌側皮質骨および頬側皮質骨断端付近の顆粒間と気孔内には骨新生が認められ、頬側皮質骨欠損側の顆粒間に肉芽組織の増生がみられた。また、頬側皮質骨断端部では既存骨膜からの再生骨膜を一部に認め、再生骨膜は空洞中央部に向かって放射状に走行していた。

③21日目

頬側皮質骨断端部から空洞中央部に至る彎曲した骨形成が顆粒間に認められ、部分的に周囲軟組織と顆粒の接触がみられた（写真11a）。骨空洞外部の筋・腺組織と顆粒間に不完全な線維性の膜様構造を認めた（写真11b）。

④28日目

空洞中央部の顆粒間に形成された骨は連続性を増して顆粒を取り囲むように骨の増生が認められ、大小多数の血管を含む幼若な骨髓様組織が形成されていた（写真12a）。周囲軟組織の顆粒間への陥入がみられ、陥入部に骨形成は認められなかった（写真12b）。また、21日目と同様に骨空洞外部の筋・腺組織と顆粒の間に線維性の膜様構造を認めた。

⑤56日目

頰側皮質骨骨欠損部のHAP顆粒は部分的に欠損部を被覆した結合組織中に存在し、骨断端間の再生骨膜の連続性と骨性治癒は観察されなかった(写真13)。また、周囲軟組織とHAP顆粒填入部表層間には膜様の線維が走行し、その直下には血管の豊富な線維性結合組織と脂肪組織の侵入が認められた。なお、舌側外骨膜の骨新生については、実験1の骨膜保存群とほぼ同じであった。

2) 蛍光像の観察と組織計量

(1) 骨膜保存群

①7日目

骨空洞内にカルセインでラベルされた新生骨の形成はほとんど認めなかった。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.07mm^2 であった。

②14日目

舌側皮質骨および頰側皮質骨断端部から骨空洞の中心方向の顆粒間に新生骨のラベリング像を認め、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 1.27mm^2 であった。

③21日目

骨膜に沿った顆粒表層にラベリング像を認め、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.84mm^2 であった。

④28日目

頰側皮質骨欠損部および骨空洞中央部の一部にラベリング像を認め、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.37mm^2 であった。

⑤56日目

カルセインでラベルされた新生骨はおもに骨空洞の底部に認められ、填入したHAP顆粒の外形に沿って形成された新生骨により顎骨の形態が回復されていた(写真14)。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.06mm^2 であった。

以上より、カルセインでラベルされた骨空洞内の新生骨の面積は、7日目より増加し、14日目に最大となった後、経時的に減少する傾向を示した(図3)。

(2) 骨膜切除群

①7日目

骨空洞内にカルセインでラベルされた新生骨をわずかに認め、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.07mm^2 であった。

②14日目

舌側皮質骨空洞側および頰側皮質骨断端部から骨空洞の中央部へ向かって顆粒間にラベリング像を認めた。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 1.09mm^2 であった。

③21日目

頰側皮質骨断端部から骨空洞の中央部へ向って顆粒間にカルセインでラベルされた新生骨の形成を認めた。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.71mm^2 であった。

④28日目

頰側皮質骨欠損側および骨空洞中央部の一部にカルセインでラベルされた新生骨が認められ、カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.26mm^2 であった。

⑤56日目

骨空洞内にラベリング像はほとんど認めず、頰側皮質骨欠損部に形成された新生骨中央部に陥凹がわずかに認められた(写真15)。カルセインでラベルされた新生骨の面積は平均 0.05mm^2 であった。

以上より、カルセインでラベルされた骨空洞内の新生骨の面積は、7日目より増加し、14日目に最大となった後、経時的に減少する傾向を示した(図3)。

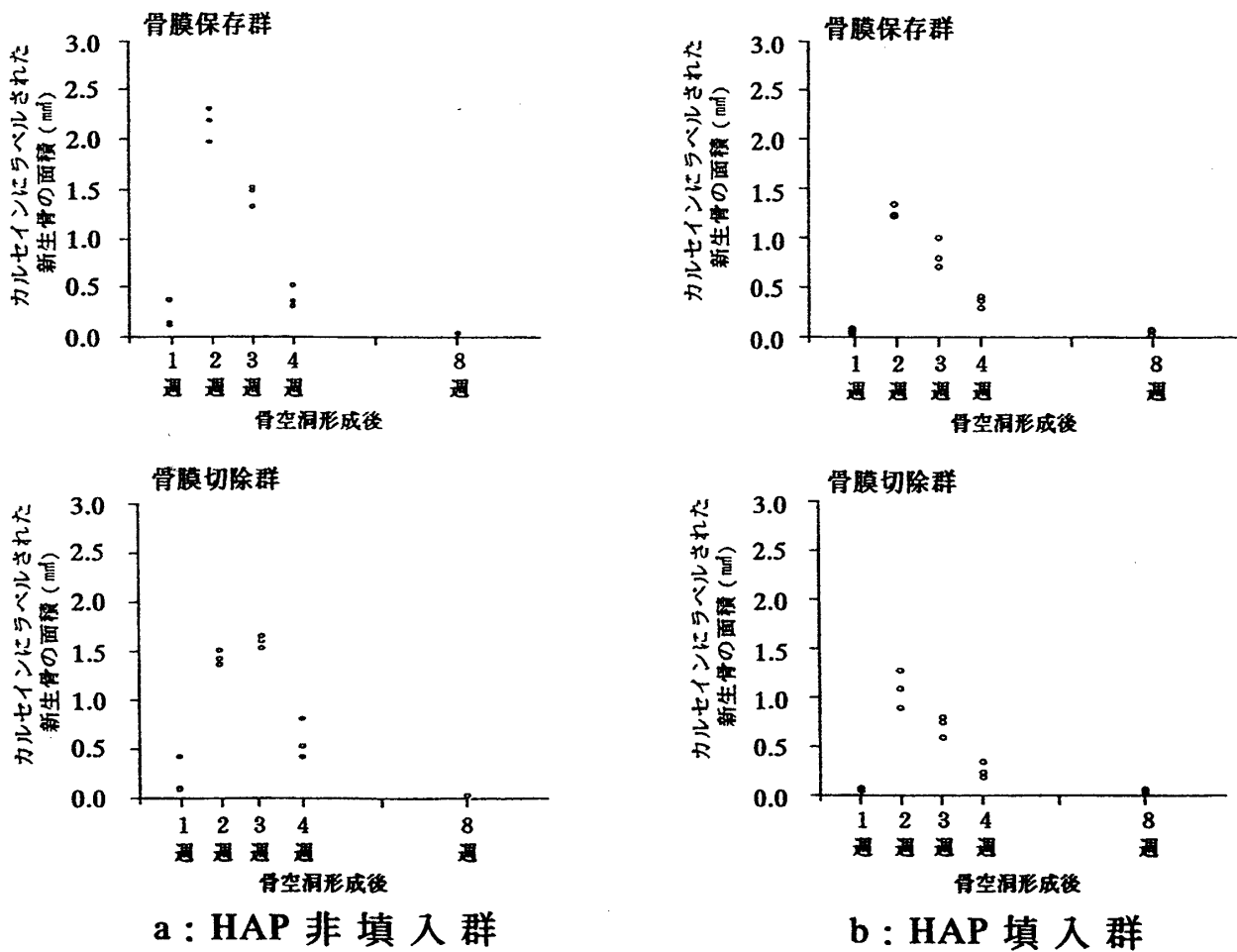


図3 カルセインにラベルされた新生骨の面積

IV. 考 察

1. 骨空洞の大きさについて

顎骨の骨欠損に対する治癒過程に関する研究の多くは、顎骨を切除あるいは離断したものを対象としてなされているものがほとんどで、顎骨内に大きな骨空洞を形成し、その治癒過程を検討したものはMohiuddin²⁷⁾や村上²⁴⁾、笠原²⁸⁾の報告のみである。Mohiuddin²⁷⁾は成熟ウサギの下顎骨骨体部に12×9×3.5mmの骨空洞を形成して治癒過程を観察した結果、この大きさの空洞では空洞内面からの修復と空洞を被覆する頬側外骨膜からの修復を明瞭に区別できたと述べ、さらに外骨膜切除群では術後70日以降でも皮質骨の形成は認めず、骨空洞形成側に陥凹が

残ったとしている。一方、骨空洞内にHAP顆粒を填入しその治癒過程をみた研究は、いずれも小さな骨空洞でなされているものが多い。藤井ら²³⁾は、成犬下顎骨第1後臼歯抜歯後、抜歯窩に近遠心的に幅径約4mmのchannel形成を行い、人工的骨欠損を作製し、同部にHAP顆粒填塞後2週目で新生骨の形成を認め、既存骨から形成された骨がHAP顆粒を取り囲み、4週目には新生骨により表層部が骨性に閉鎖し全てのHAP顆粒が骨によって囲まれたと報告している。しかし、この大きさの骨欠損では比較的短期間に骨性治癒がなされるため、骨空洞治癒過程におけるHAPの影響を観察するのは困難であると思われた。そこで、Mohiuddin²⁷⁾が用いた骨空洞の大きさは、骨空洞治癒過程におけるHAP顆粒

の役割を観察するためには最適の実験モデルと考えられたので、本研究では、この方法に準じて、ウサギ下顎骨骨体部で形成可能な最大の $12 \times 9 \times 3.5\text{mm}$ という大きな骨空洞を設定した。

その結果、実験1のHAP顆粒非填入群では骨空洞内壁面からの骨新生と骨膜側から形成された幼若な結合組織とが骨膜保存群では21日目まで区別可能であり、骨膜切除群では28日目まで明確に区別できた。すなわち、既存皮質骨から連続した海綿骨構造を呈する部分と凝血塊を含む肉芽組織との2層構造が一定の時期まで区別可能であった。また骨膜切除群では28日目において頬側皮質骨欠損部には皮質骨の形成はなく、56日目では皮質骨の形成はみられるものの、その外形は陥凹を呈していた。実験2のHAP顆粒填入群では、既存骨からの骨新生と骨膜側から形成された幼若な結合組織とが実験1と同様に、骨膜保存群では21日目まで区別可能であり、骨膜切除群では28日目まで明確に区別可能であった。56日目において骨膜保存群では、HAP顆粒を介在した骨性治癒による良好な形態の回復が認められたが、骨膜切除群では、HAP顆粒による形態の回復はなされているものの皮質骨切除中央部で非骨形成領域が認められた。

2. 骨空洞内の治癒過程におけるHAP顆粒の役割について

HAPは骨や歯の無機成分に極めて近い組成のセラミックスであり、骨組織に対する親和性が優れていることから骨腔充填材、架橋材、人工歯根として臨床応用されている。HAPは、リン酸三カルシウムや生体ガラスとともに骨伝導能を有する人工生体材料であり、形状により粉体、顆粒およびブロックがあり、気孔構造と大きさ、気孔率なども様々である。下顎骨再建における骨体部補填様式は、骨内補填^{8,9,18,20,21}と架橋補填^{29,30}に大別される。本実験系は、部分切除後のHAPによる骨内補填であり、補填による

形態の回復と骨性治癒を目的とするため、材料の形状として填塞状態を調整できる顆粒を選択し、性状として細胞や血管の侵入を妨げない $100 \sim 300\mu\text{m}$ の気孔径を有する多孔質を使用した^{31,32,33}。その結果、実験2の骨膜保存群と骨膜切除群では手術時に下顎骨の形態の回復が可能で、7日目には多孔質顆粒の顆粒間と気孔内のほとんどはフィブリンと赤血球を主体とした凝血塊と肉芽組織で満たされ、14日目には肉芽組織の増生と既存骨付近の顆粒間や比較的大きな気孔内に新生骨の形成を認めた。21日目では新生骨は空洞内の顆粒間や気孔内に広範に認め、28日目には骨梁は太さを増し緻密な骨となっていた。56日目ではHAP顆粒間を架橋するように骨性治癒が進行して良好な形態の回復が得られた。これは、HAP顆粒が 1200°C 焼成のため非吸収性であるため、吸収による減少がなく、組織増量材としての役割を手術後初期から果たしたものと考えられる。またHAP顆粒は人工的な骨基質として新生骨梁間を架橋する役割を果たし効率的な骨形成がなされたものと思われる。

気孔内の組織像をみると、56日目でも細胞侵入がみられない小さな気孔が観察されたが、このような気孔は、表面からの連続性を有さない気孔や内径が $100\mu\text{m}$ 以下の極めて微細な気孔であることが推察され、骨内補填として適した顆粒は細胞や血管の侵入を妨げない程度の内径を有し、これに加えて顆粒表面と連続した気孔を有するものであると考えられた。また、気孔率に関しては骨空洞内の組織形成空間を広く提供して、母骨と均質な骨組織形成の場を得るように、本実験で使用した気孔率20%顆粒よりも、さらに高い気孔率を有する顆粒が望ましいと思われる。

興味深いことに、今回骨膜切除群の21日目に数層の線維性組織が骨膜欠損側の顆粒と骨空洞外部軟組織間に認められたが(写真11b)、その線維性組織は断裂した既存の骨膜と連続してい

ないことから、HAP顆粒に対する局所の組織反応の結果形成されたものと考えられた。骨膜切除群の56日目では骨膜保存群に比べて頬側皮質骨欠損部の骨形成は不十分であるものの、同部のHAP顆粒周囲には線維性結合組織がみられ、その表層は線維性被膜により周囲組織と境されていることから、この線維性結合組織中に骨が形成されるものと推察された。

以上のことから、HAP顆粒は、骨伝導能を有する組織増量材として骨形成の場を確保するとともに新生骨を架橋する基質として形態の回復に重要な役割を演ずることが明らかとなった。さらに、被覆骨膜の欠如した骨空洞でもHAP顆粒を填入することにより顆粒塊と周囲軟組織との間に膜様の線維性組織が出現し、この組織が境界膜として軟組織の侵入を阻止することにより欠損部の形態回復に役立つものと考えられた。今後、HAPと骨形成タンパク質の複合化^{31,32)}が可能になれば骨誘導能を有する人工骨補填材として臨床的に適応範囲がさらに拡大されるものと思われる。

3. 骨空洞の治癒過程における頬側外骨膜の役割について

顎骨骨欠損の修復に関する実験的研究で、骨膜の骨再生能に注目した研究は数多くみられる²⁵⁾²⁶⁾³⁴⁾³⁵⁾。須田³⁶⁾は、幼若および老齢ラットを用いて脛骨骨折後の治癒過程を比較し、幼若群に比べて老齢群の骨膜は、著明な退行変性像を示し、骨折後の治癒も老齢群では遅延し時間的な差があるが、治癒過程で出現する細胞と形成される基質に関しては両群の間に本質的な差異は認められなかったと報告している。津山³⁷⁾は、1か月齢の幼若ウサギと1年6か月齢の成熟ウサギを用いて、前肢前腕尺骨骨膜を前腕上部の尺側手根屈筋と尺側手根伸筋との間に遊離骨膜移植した結果、幼若群では成熟群に比べて少なくとも1週間以上早く骨形成が認めら

れたが、成熟群でも移植後21日目には骨形成が認められたことを報告している。このように、成熟ウサギの骨膜では、加齢による細胞機能の低下から骨形成層の活動力に減退傾向がみられるものの、骨形成能はあると述べている。笠原²⁸⁾もまた、14週齢の成長期のウサギと30週齢の成熟期のウサギを用いて、下顎骨骨体部に $12 \times 9 \times 4.0$ mm大の骨空洞を形成し、骨空洞の治癒過程に対する外骨膜の影響を比較し、骨空洞を被覆する頬側外骨膜部の新生骨量は、成熟期群の方が有意に少ない傾向を示したものの、術後28日目では成長期群と同様に新生骨が形成され、下顎骨の外形はほぼ修復され、外骨膜が顎骨の形態回復に重要な役割を演じていると報告している。

本実験1と2の骨膜保存群において、7日目と14日目では骨面から剝離した後復位した骨膜からの活発な骨形成は認められなかったものの、28日目では頬側皮質骨断端部からカルセインでラベルされた新生骨が骨膜に沿って形成され、頬側皮質骨欠損部の新生骨の緻密化と骨性治癒が骨膜切除群よりも早期におこっていた。これは、骨空洞を被覆する外骨膜が、術後早期の時点で周囲軟組織の骨空洞内への侵入を阻止して骨形成の場を確保するとともに、おもに軟組織との境界膜として骨形成の方向性を提示し、また治癒過程の中期から後期では外骨膜に存在する骨原性細胞により骨形成が促進されたためと考えられた。一方、骨膜切除群56日目においてHAP顆粒の填入により顎骨の形態は保持されているものの、腺組織とHAP顆粒が緊密に接している部位では骨断端部からの皮質骨形成方向が中央部へ彎曲していた組織像も認められた。これは骨膜切除により、周囲軟組織が骨膜を介することなくHAP顆粒に直接圧接されるため、両者の間に再生骨膜の侵入に必要な間隙がなく、従って、骨膜が欠如している例では、軟組織とHAP顆粒填入部表層の間に骨膜に代

わるスパーサーを置く必要性が示唆された。

4. 舌側外骨膜による骨新生について

ラットなどのゲッ歯類に抜歯を行った場合、抜歯窩外側の骨膜が反応性に肥厚し、既存骨の表層面に旺盛な新生骨の形成がみられることが報告されている³⁸⁻⁴⁰⁾。また村上²⁴⁾は、本実験と同じ大きさの骨空洞を形成して舌側骨膜部の組織反応を形態学的に観察した結果、骨空洞形成後5日目には下顎骨舌側のほぼ全域にわたり外骨膜が肥厚し、線維芽細胞様細胞と骨芽細胞のほか索状の新生骨の形成が広範囲に認められたが、7日目以降には外骨膜の肥厚した部位は限局するとともに、線維芽細胞様細胞と骨芽細胞は減少する傾向を示したと報告している。本実験1と2の全ての群においても、骨空洞形成後7日目の所見で舌側外骨膜の肥厚と多数の骨芽細胞による活発な骨形成が認められた。これは、空洞形成による下顎骨の機械的強度の低下に対し、代償性に反応性の骨添加をきたしたものと考えられた。

5. 治癒過程で形成された軟骨について

一般に骨の形成機構は、結合組織性骨化（膜性骨化）と軟骨性骨化の2種類に大別されることが知られている⁴¹⁾。結合組織性骨化とは、線維様または膜様結合組織内の骨芽細胞が分化して骨が直接形成される骨化様式であり、軟骨性骨化とは軟骨細胞によって石灰化軟骨が形成され、これが骨に置換される骨化様式である。骨芽細胞と軟骨細胞は未分化間葉系細胞に由来すると考えられており、1961年Basset^{42,43)}は、未分化間葉系細胞の分化の振り分けに影響を及ぼす因子として酸素分圧と機械的な圧力に注目し、胎生20日の鶏胚脛骨皮質骨の組織培養実験から、低酸素分圧下で圧力を加えると軟骨が形成されるが、高酸素分圧下で圧力を加えると骨が形成されることを報告した。そして、未分化間

葉系細胞の置かれた環境条件、特に酸素分圧が骨芽細胞と軟骨細胞への振り分けに影響を与えることを報告した。

本実験1のHAP非填入・骨膜保存群の14日目において、骨空洞中央部に肥大化した軟骨細胞や2核の軟骨細胞を含む軟骨組織がみられたが、軟骨塊は周囲に形成された骨組織と連続していた。また、連続切片により軟骨は骨空洞中央部に局所的に形成されたことが確認された。この理由として、骨空洞中央部は既存骨や軟組織からの血管を介した酸素分圧が他部位よりも低いことが推測され、この酸素分圧の低下がその間葉細胞の軟骨細胞への分化を惹起したと考える。なお、実験2のHAP顆粒填入の両群では、軟骨の形成は確認されなかったが、若月¹⁷⁾は下顎骨下縁部に近遠心径6mm、上下径4mmの骨切除を行い、欠損部への緻密体HAP顆粒填入後の7日目と14日目にHAP顆粒に隣接して形成された軟骨を一部に認めている。このことから骨・軟骨系列の細胞分化に局所の組織環境が関与していることが示唆された。

V. 結 論

ウサギ下顎骨骨体部に12×9×3.5mmの骨空洞を形成し、空洞内にHAP顆粒を填入した場合と填入しない場合の治癒過程と外骨膜の役割について病理組織学および組織計量学的に検討し、以下の結果と結論を得た。

1. HAP顆粒非填入・骨膜保存群において、56日目に広範な骨髓腔を伴う骨性治癒によりほぼ骨空洞形成前の形態に近い回復が得られたものの、頬側骨欠損中央部に骨空洞内への陥凹を認めるものも存在した。
2. HAP顆粒非填入・骨膜切除群において、56日目に頬側皮質骨欠損中央部では形成された骨に空洞内への陥凹が認められた。
3. HAP顆粒填入・骨膜保存群において、顆粒填入後から良好な形態が維持され、14日目よ

り皮質骨断端部近傍の骨膜に骨芽細胞の配列と新生骨形成が認められたが、中央部の骨膜には骨芽細胞はみられなかった。56日目にHAP顆粒を介在した新生骨による良好な形態の回復が認められた。

4. HAP顆粒填入・骨膜切除群において、HAP顆粒填入・骨膜保存群と同様に顆粒填入後から良好な形態が維持され、21日目から骨膜欠損側のHAP顆粒表面と周囲軟組織との間に膜様線維性組織の形成を認めた。56日目で頰側皮質骨欠損中央部を除く部分にHAP顆粒を介在した骨形成がみられ、下顎骨の形態は良好に維持されていたが、HAP顆粒と周囲軟組織が接触している部分では骨形成は認めなかった。

以上の結果から、HAP顆粒は、骨伝導能を有する組織増量材として骨形成の場を確保するとともに新生骨を架橋する基質として形態の回復に重要な役割を果たしており、骨膜はおもに骨原性組織の形成の場を保持する組織境界膜として骨の形成方向を規定する役割をになっていることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えてくださり、終始ご懇篤なるご指導ならびにご校閲を賜りました有末 眞教授に深甚なる謝意を表しますとともに、ご教示、ご校閲を賜りました聖路加国際病院歯科口腔外科部長村瀬博文先生、本学口腔病理学講座賀来 亨教授、本学口腔外科学第一講座金澤正昭教授に深謝致します。また、本研究を進めるにあたり種々のご協力を頂いた口腔外科学第2講座村田 勝先生はじめ教室の諸先生に心よりお礼申し上げます。

参考文献

1. 長内幸一：骨髄を含む海綿骨梁移植の実験的研究。歯科学報 81：875-887, 1981.
2. John, R. A., Doran, E. R. and Karl A. M.: The autogenous particulate cancellous bone marrow graft in alveolar clefts. Oral Surg. 51: 588-591, 1981.
3. 黒田雅仁：下顎骨欠損への骨髄を含む海綿骨梁移植における骨新生と骨再構築機転に関する実験的研究。歯科学報 83：683-711, 1983.
4. 山根源之：PCBM移植(細片骨移植)。歯科ジャーナル 25：179-189, 1987.
5. 落合栄樹：自家新鮮海綿骨および同種脱脂凍結乾燥海綿骨の筋膜下移植における新鮮遊離骨膜・脱脂凍結乾燥骨膜の被包効果に関する実験的研究。日口外誌 38：1041-1054, 1992.
6. Hoogendoorn, H. A., Renooij, W., Akkermans, M. A., Visser, W. and Wittebol, P.: Longterm study of large ceramic implants (Porous Hydroxypapatite) in dog femora. Clin. Orthop. 187: 281-288, 1984.
7. Shafer, S. C. and Parnell, A. G.: Hydroxypapatite augmentation of the mandible with simultaneous mucosal using graft vestibuloplasty. J. Oral Maxillofac. Surg. 42: 749-750, 1984.
8. 山崎安晴：人工骨としての多孔質アパタイト—顎骨補填実験一。口病誌 51：372-406, 1984.
9. 栗原由紀夫, 原田 康, 若月達也, 野間弘康：顎骨欠損部へのハイドロキシアパタイトに関する実験的研究(第3報)—その臨床応用について一。歯科学報 84：1861-1862, 1984.
10. Lew, D.: A Method for augmentating the severely atrophic maxilla using hydroxylapatite. J. Oral Maxillofac. Surg. 43: 57-60, 1985.
11. Block, M. S. and Kent, J. N.: Healing of mandibular ridge augmentation using hydroxylapatite with and without autogenous bone in dogs. J. Oral Maxillofac. Surg. 43: 3-7, 1985.
12. 平 博彦：結晶化ガラス顆粒による顎堤形成術の実験的研究。日口外誌 37：1937-1949, 1991.
13. 原田尚也：フィブリン接着剤(TisseelR)を応用した結晶化ガラス顆粒による骨膜下トンネル法顎堤形成術の実験的研究。東日本歯誌 13：43-61, 1994.
14. 村瀬博文, 田中 収, 永井教之：ハイドロキシアパタイトによる無歯顎顎堤形成法。東日本歯誌 5：129-141, 1986.
15. Kawanabe, K., Yamamura, Y., Kotani, S. and Nakamura, T.: Acute nephrotoxicity as an adverse effect after intraperitoneal injection of

- massive amounts of bioactive ceramic powders in mice and rats. *J. Biomed. Mater. Res.* **26**: 209-220, 1992.
16. 山崎安晴, 大西正俊, 塩田重利, 小木曾誠, 一條尚: 人工骨としての多孔質アパタイト — 1. 脛骨埋入実験 —. *口病誌* **49**: 41-68, 1982.
17. 若月達也: 顎骨欠損部への Hydroxyapatite (HAP) 移植後の治癒過程に関する実験的研究 — 多孔性 HAP と緻密性 HAP との比較について —. *歯科学報* **85**: 931-952, 1985.
18. 栗原由紀夫: 家兎下顎骨欠損部への Hydroxyapatite (HAP) 顆粒および Tricalcium Phosphate (TCP) 顆粒移植後の治癒過程に関する実験的研究 — リン・カルシウム比の差による組織反応の違いについて —. *歯科学報* **87**: 1099-1139, 1987.
19. 南部淑文: ヒドロキシアパタイトの顎骨欠損部への応用に関する実験的研究 — 特にアパタイト界面部の血管像と骨形成について —. *日口外誌* **36**: 2437-2446, 1990.
20. 島村憲優: 骨形成タンパクーヒドロキシアパタイト複合体による骨欠損部修復実験. *日口外誌* **37**: 1981-1994, 1991.
21. 長田哲次, 大石正道, 白土雄司, 樋口勝規: 顎骨の小欠損へのヒドロキシアパタイト使用症例術後経過の検討. *口科誌* **41**: 695-707, 1992.
22. 嶋村知記: 家兎下顎骨欠損腔への多孔質ヒドロキシアパタイトブロック補填に関する神経組織学的研究. *九州歯会誌* **48**: 118-138, 1994.
23. 藤井俊治, 阿部廣幸, 真中信之, 片海裕明, 片桐三恵, 星 佳芳, 扇内秀樹: イヌ下顎骨における合成ヒドロキシアパタイトの填塞に関する研究(1) — 粒状緻密体の病理組織的観察 —. *日大歯学* **68**: 262-271, 1994.
24. 村上有二: 成熟家兎下顎骨骨空洞の治癒過程における骨再生. *北海道歯学誌* **15**: 161-184, 1994.
25. 織家 茂: 下顎骨骨欠損部の骨再生に関する実験的研究 — 特に骨膜の影響について —. *日口外誌* **31**: 438-454, 1985.
26. 中島正博, 岡田成賛: 下顎骨部分切除後の治癒過程における微細血管構築について. *日口外誌* **40**: 1049-1057, 1994.
27. Mohiuddin, A.: Role of periosteum in the healing process of bony cavities in rabbit mandibles. *Asian J. Oral Maxillofac. Surg.* **5**: 65-81, 1993.
28. 笠原和恵: 加齢が骨再生機序に及ぼす影響に関する病理組織学的研究 — 成長期と成熟期のウサギにおける下顎骨骨空洞の治癒過程の比較 —. *日口外誌* **43**: 324-338, 1997.
29. 熊谷正浩, 千葉雅俊, 成田憲司, 越後成志, 手島貞一: 骨形成因子によるイヌ人工的顎裂部骨架橋形成に関する実験的研究 — 骨架橋形成過程の組織学的検討 —. *日口外誌* **40**: 756-761, 1994.
30. 千葉雅俊, 熊谷正浩, 幸地省子, 越後成志, 手島貞一: 骨形成因子によるイヌ顎裂部の骨架橋形成 — 骨架橋の長期的観察 —. *日口外誌* **41**: 774-779, 1995.
31. Ripamonti, U., Ma, S. and Reddi, A. H.: The critical role of geometry of porous hydroxyapatite delivery system in induction of bone by osteogenin, a bone morphogenetic protein. *Matrix* **12**: 202-212, 1992.
32. 村田 勝: 骨形成タンパク質 (BMP) による細胞分化のマトリックス依存性 — 多孔質ヒドロキシアパタイトにおける直接骨形成の確認 —. *北海道歯学誌* **15**: 148-160, 1994.
33. Tsuruga, E., Takita, H., Itoh, H., Wakisaka, Y. and Kuboki, Y.: Pore size of porous hydroxyapatite as the cell-substratum controls BMP-induced osteogenesis. *J. Biochem.* **121**: 317-324, 1997.
34. 長束三千雄: 骨再生に関する実験的研究. 特に上・下顎骨骨膜の変化について. *歯科学報* **80**: 1769-1789, 1980.
35. Dahlin, C., Gottlow, J., Linde, A., Nyman, S.: Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique an experimental study in monkeys. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg.* **24**: 13-19, 1990.
36. 須田 暁: 骨折治癒過程における骨膜の電顕組織化学的研究 — 幼若・老齢およびクル病ラットを比較して —. *日整会誌* **50**: 483-501, 1976.
37. 津山 建, 北 進一, 松田光悦, 市川 徹: 骨膜の骨形成能に関する研究 2. 家兎尺骨骨膜構造の年齢による差異. *日口外誌* **38**: 1785-1790, 1992.
38. 尾田充孝: Streptozotocin 誘発糖尿病ラットにおける骨代謝に関する病理形態学的研究. *歯基礎誌* **35**: 157-185, 1993.
39. Todo, H.: Healing mechanism of tooth extraction wounds in rats- I. *Archs. Oral. Biol.* **13**: 1421-1427, 1968.
40. Astrand, P. and Carlsson, G. E.: Changes in the alveolar process after extractions in the white

- rat. Acta. Odont. Scand. **27** : 113-127, 1969.
41. Jee, W. S. S. : Histology, Cell and Tissue Biology, 5th ed., The skeletal tissues. 200-255, The MacMillan Press, London, 1983.
42. Bassett, C. A. L. : Influence of oxygen concentration and mechanical factors on differentiation of connective tissues in vitro. Nature. **190** : 460-461, 1961.
43. Bassett, C. A. L. : Current concepts of bone formation. J. Bone & Joint Surg., **44-A**, 1217-1244, 1962.

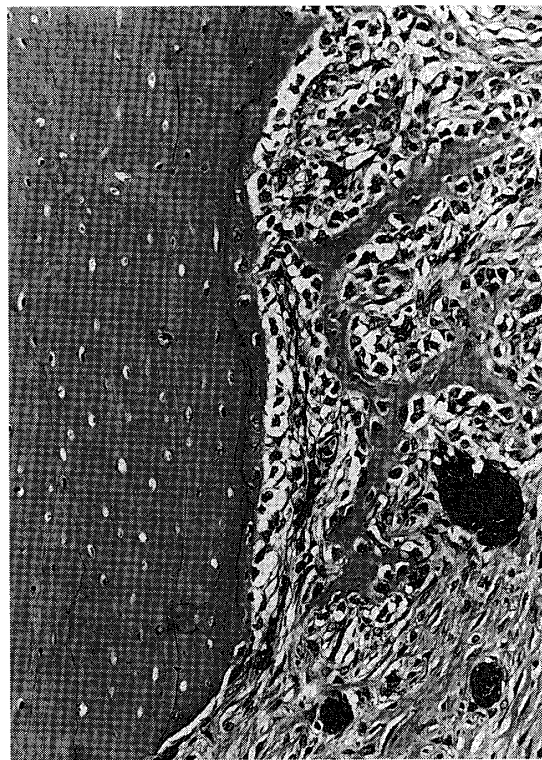
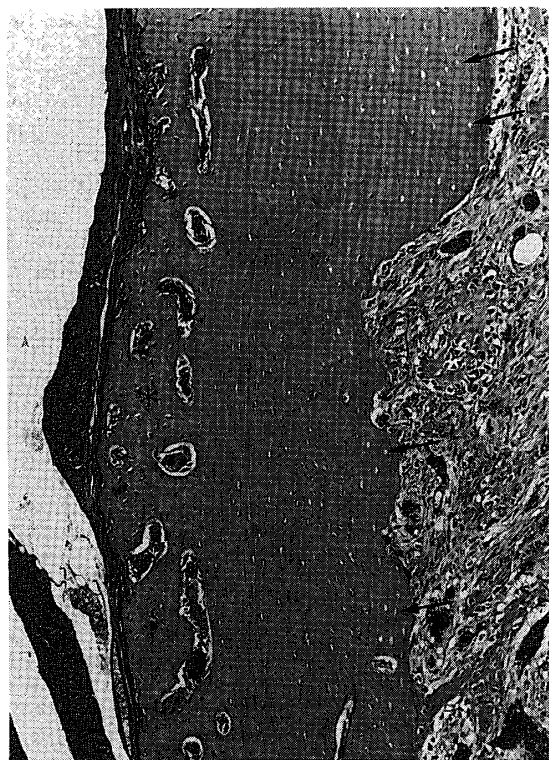


写真1 骨空洞形成後7日目

1a: 舌側骨膜は全体的に肥厚し、梁状の新生骨が既存骨表層に形成されている(*印)。皮質骨空洞側の骨細胞が数層消失しており(矢印)、その封入細胞の認められない既存骨から連続して梁状の新生骨が形成されている。(HE染色)

1b: 1aの拡大像 (HE染色)

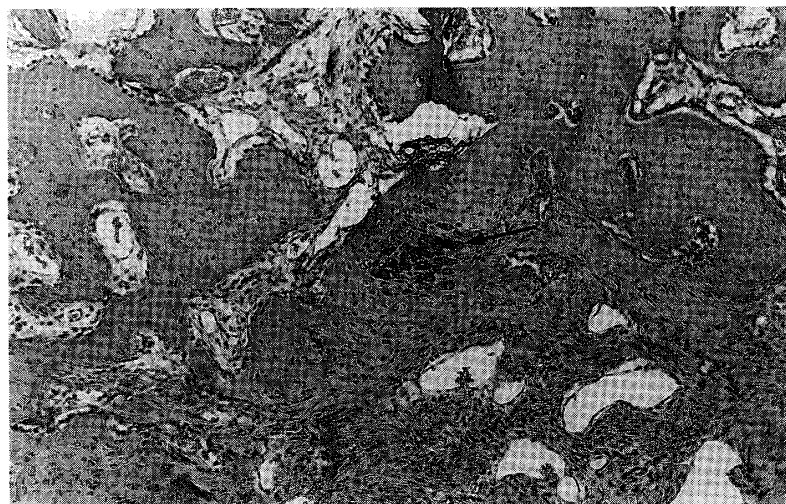


写真2 骨空洞形成後14日目

骨空洞内中央部相当の新生骨内に肥大軟骨細胞を含む硝子軟骨(矢印)を認る。(HE染色)



写真3 骨空洞形成後21日目

3a: 骨空洞内全体に大小多数の血管を伴う骨形成が認められる (*印)。(HE染色)

3b: 舌側の外骨膜下の新生骨には緻密化と多数の大きな血管を認める (*印)。(HE染色)

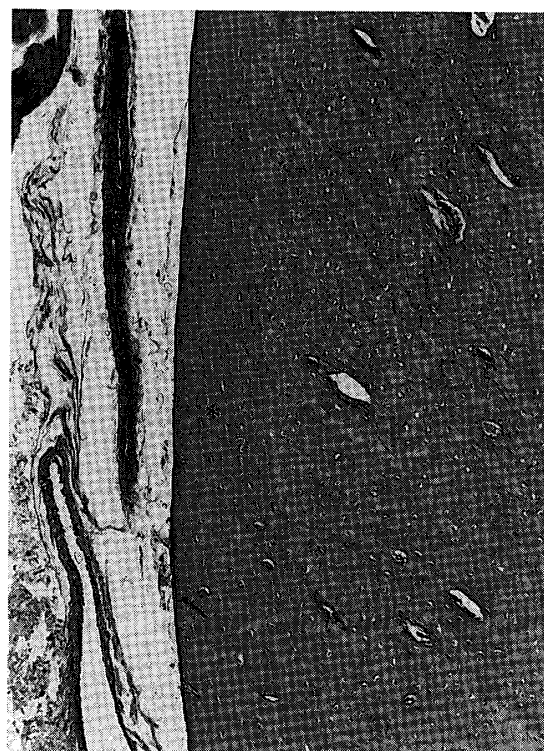


写真4 骨空洞形成後56日目

4a: 下顎骨は骨空洞形成前の形態にほぼ修復されている。頬側骨欠損側に形成された新生骨は緻密化が進行し (*印)、中央部は骨髄組織で広範に置換され連続性のない骨梁小塊が散在している。(HE染色)

4b: 舌側骨膜下の新生骨は緻密化して骨細胞の分布は規則的になり、既存皮質骨に類似した構造を呈している (*印)。(HE染色)

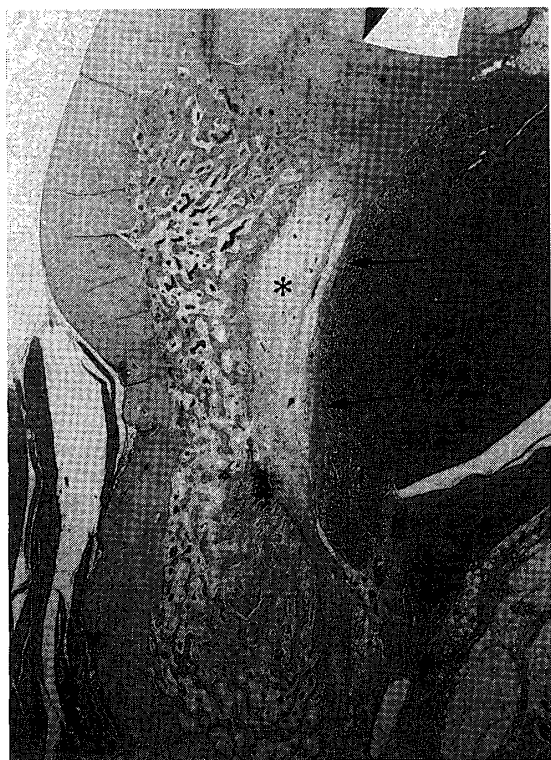


写真5 骨空洞形成後21日目
舌側既存骨から骨空洞中央部まで骨形成が進行し（*印）、骨空洞内に周囲軟組織の陥入を認める（矢印）。（HE染色）



写真6 骨空洞形成後56日目
頬側皮質骨欠損中央部に陥凹を認めるが（矢印）緻密骨に連続性がみられる。（HE染色）

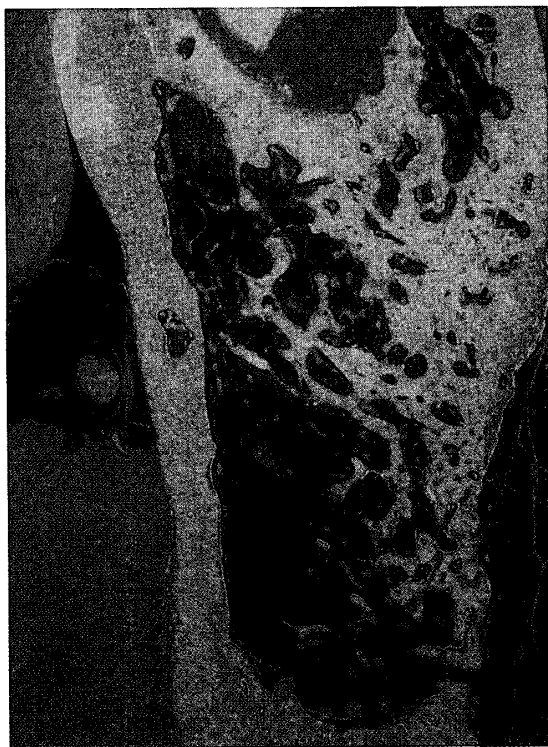


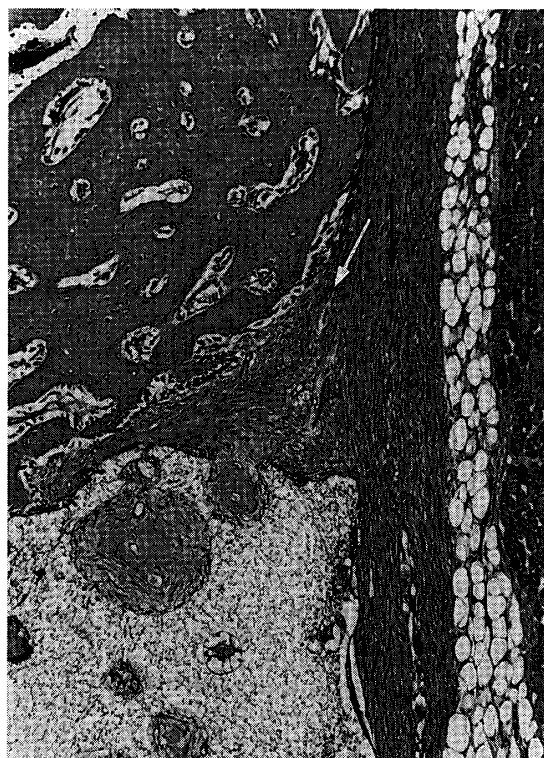
写真7 骨空洞形成後56日目（骨膜保存群）
骨空洞の頬側皮質骨切除部に形成された新生骨の最外層のみにラベリングを認める。（蛍光像）



写真8 骨空洞形成後56日目（骨膜切除群）
骨空洞の中央部が陥凹した皿状形態を呈している。（蛍光像）



写真9 骨空洞形成後21日目
9a: 頬側骨膜下の顆粒間に梁状の線維性骨が広範に認められる。(HE染色)



9b: 剥離復位した骨膜は2方向に分かれ、一方は顆粒表面を覆い(矢印)、他方は、空洞内へ走行し(白矢印)、皮質骨断端部から空洞内に向かって走行している骨膜に沿って骨形成を認める(*印)。(HE染色)



写真10 骨空洞形成後56日目
HAP顆粒間および気孔内の骨形成は進行し、形成された骨組織の緻密化も認められる。(HE染色)



写真11 骨空洞形成後21日目

11a：頬側皮質骨下縁側断端部より骨空洞中央部に向かってU字状に陥凹した骨形成がみられる(矢印)。(HE染色)

11b：骨膜切除側の顆粒と骨空洞外部の筋や腺組織間に線維性の膜様構造(矢印)を認める。骨形成はみられない。(HE染色)

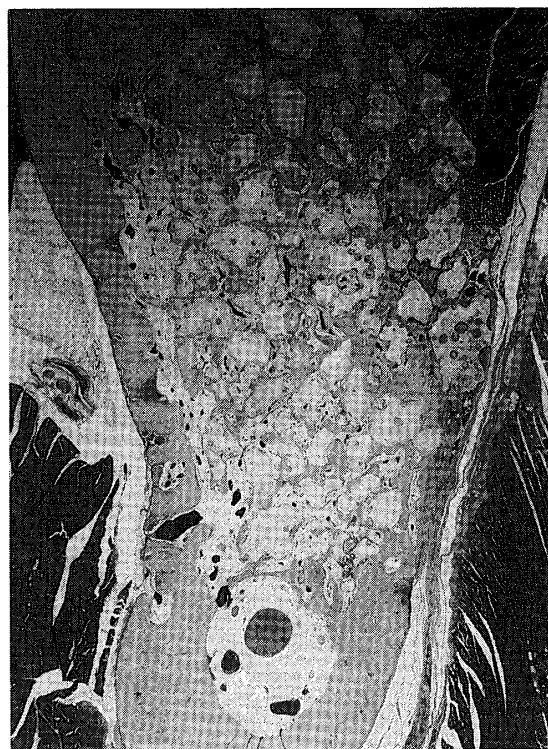


写真12 骨空洞形成後28日目

12a：顆粒間に形成された骨は連続性を増して顆粒を取り囲むように骨形成が認められる。(HE染色)

12b：周囲軟組織の顆粒間への陥入がみられ(矢印)、同部に骨形成は認められない。(HE染色)



写真13 骨空洞形成後56日目
頬側皮質骨欠損部の骨形成は一部にみられるのみで、既存骨断端間の新生骨による連続性は認めない。(HE染色)

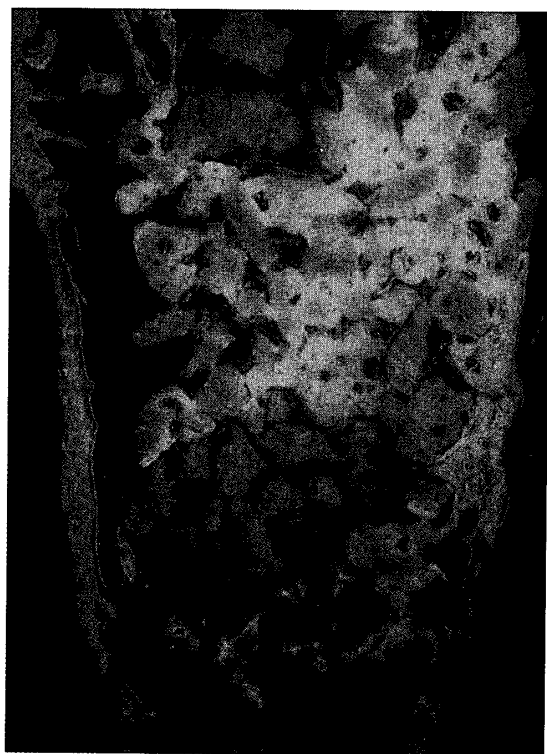


写真14 骨空洞形成後56日目（骨膜保存群）
ラベリング像は主に骨膜側と空洞底部に認め、填入したHAP顆粒の外形に沿って形成された骨により顎骨形態が回復されている。（蛍光像）



写真15 骨空洞形成後56日目（骨膜切除群）
骨空洞内にラベリング像はほとんどみられず、頬側中央部に非骨形成領域（*印）が認められる。（蛍光像）